



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

**“Efecto de antígenos de *Clostridium perfringens* y
ácido retinoico sobre la expresión de IgA en la mucosa
intestinal de crías de alpacas (*Vicugna pacos*)”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Roberto César LÁZARO BARRETO

Lima, Perú

2013

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar los niveles de expresión relativa del gen del exón 1 de la IgA en el epitelio intestinal de las crías de alpacas tratadas y no tratadas por vía oral con antígenos de *Clostridium perfringens* más All -trans Ácido Retinoico (ATRA). Se muestrearon 32 animales: 14 tratados (6 de 1 día de edad y 8 entre 7 a 14 días de edad) y 18 no tratadas (10 de 1 día de edad y 8 entre 7 a 14 días de edad). Las muestras tomadas correspondieron a 2 cm de yeyuno, la cual fue congelada en nitrógeno líquido a -196°C . A su arribo en el laboratorio se realizó la extracción de ARN total con Trizol® siguiendo las indicaciones del fabricante, luego se sintetizó ADN complementario (ADNc). Posteriormente se realizó la PCR convencional y la técnica de RT-PCR Tiempo Real empleando oligonucleótidos diseñados para la detección del exón 1 de la región Fc IgA de alpaca. La cuantificación de la expresión relativa mediante normalización con ARNm del gen GAPDH y los cálculos de la expresión relativa se realizaron utilizando el método Ct comparativo ($2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$). Se comprobó que la administración de antígenos de *Clostridium perfringens* más ATRA ejerce un efecto inmunomodulador positivo sobre la IgA en mucosa intestinal de crías de alpacas tratadas con respecto a las no tratadas. Los animales tratados de 1 día de edad y entre 7 a 14 días de edad presentaron mayor producción de ARNm de IgA con respecto a sus sendos grupos no tratados, evidenciando diferencias significativas ($p < 0.05$).

Palabras claves:

Camélidos sudamericanos, *Clostridium perfringens*, inmunoglobulina A, Ácido retinoico, RT-PCR tiempo real, cuantificación relativa

ABSTRACT

The aim of this study was to compare relative expression levels of the gene from exon 1 of the IgA in the intestinal epithelium of baby alpacas untreated and treated orally with *Clostridium perfringens* antigens and All-trans retinoic acid (ATRA). 32 animals were sampled: 14 treated (6 of 1 day old and 8 between 7-14 days old) and 18 untreated (10 of 1 day old and 8 between 7-14 days old). The samples corresponded to 2 cm of the jejunum, which was frozen in liquid nitrogen at -196 ° C. On arrival in the laboratory total RNA extraction was conducted with Trizol ® following the manufacturer's instructions, then synthesized complementary DNA (cDNA). Later the conventional PCR and RT-PCR Real Time using oligonucleotides designed for the detection of exon 1 of the region Fc IgA alpaca. Quantifying the relative expression by normalization with GAPDH gene mRNA, and the relative expression calculations were performed using the comparative Ct method (2-DDCt). It was found that the administration of antigens *Clostridium perfringens* and ATRA exerts positive immunomodulatory effect of IgA on the intestinal mucosa alpacas pups treated with respect to those not treated. Animals treated 1 day old and 7 to 14 days old showed higher IgA mRNA production with respect to its two separate untreated group showing significant differences ($p < 0.05$).

Keywords:

Camelids, *Clostridium perfringens*, immunoglobulin A, Retinoic Acid, real-time RT-PCR, relative quantification